

Efecto del Diacepam sobre la Extinción Consumatoria

Justel, Nadia ^{a,b}, Mustaca, Alba ^{a,b}, Bentosela, Mariana ^{a,b} y Ruetti, Eliana ^{a,b}

^a Laboratorio de Psicología Experimental y Aplicada (PSEA). CONICET-Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

^b Instituto de Investigaciones Médicas (IDIM). CONICET-Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

Artículo Original

Resumen

La frustración puede definirse como la reacción emocional que se produce ante la disminución u omisión inesperada de un reforzador. Uno de los procedimientos experimentales utilizados para inducir frustración es la Extinción consumatoria, en ella las ratas reciben una solución azucarada al 32% y luego sorpresivamente no reciben la recompensa. Los resultados obtenidos señalan que la administración de diacepam acelera la supresión de la respuesta condicionada ante el bebedero vacío. Los datos hallados coinciden con el efecto de otros tratamientos ansiolíticos sobre la Extinción consumatoria y procedimientos operantes que utilizan la respuesta de presión de palanca. Sin embargo, son opuestos a lo observado en otros procedimientos consumatorios, que utilizan agua en animales sedientos, y en otras tareas instrumentales en las que el diacepam retrasa la extinción de la respuesta. Los datos se discuten en el marco del papel controversial que tienen los ansiolíticos en la extinción de una respuesta previamente adquirida.

Palabras claves:

Diacepam; Extinción Consumatoria; Frustración; Ratas.

Recibido el 31 de Mayo de 2011; Recibido la revisión el 05 de Junio de 2011; Aceptado el 06 de Agosto de 2011

Abstract

Diazepam's effects on consummatory extinction. Frustration can be defined as the emotional reaction that is caused by an unexpected decrease or omission of a reward. One of the experimental procedures used to induce frustration is the consummatory Extinction; in which rats receive a 32% sucrose solution and then suddenly do not receive any reward. The results obtained in this study indicate that administration of diazepam accelerate the suppression of the conditioned response to the empty sipper tube. The obtained data are consistent with the effect of other anxiolytic-like treatments on consummatory extinction and operant procedures using the lever press response. However, they are opposite to those observed in other consummatory procedures that used water for thirsty animals and other instrumental tasks in which diazepam delay the extinction of the response. The data are discussed in relation to the controversial role of anxiolytics in the extinction of a previously acquired response.

Key Words:

Diazepam; Consummatory Extinction; Frustration; Rats.

1. Introducción

Los cambios sorpresivos del reforzamiento (CSR) se producen cuando se disminuye u omite la cantidad o calidad de un reforzador apetitivo esperado en presencia de una expectativa de reforzadores de mayor magnitud (Papini & Dudley, 1997). Ante estos cambios, los animales presentan respuestas de frustración, similares a las conductas de estrés producidas por la presentación de estímulos aversivos, por ejemplo los animales escapan de los estímulos asociados a los CSR (Daly, 1969; Gray & McNaughton, 2000; McNaughton & Corr, 2004; Norris, Perez-Acosta, Ortega & Papini, 2009).

En la extinción los animales aprenden que un estímulo condicionado o una respuesta condicionada, ya no están más asociados a la presentación de un estímulo incondicionado, y por lo tanto, se produce una disminución de la conducta (Bouton, 2004). Además del decremento en la respuesta, aparecen reacciones emocionales, tales como un aumento de la respuesta al principio de la extinción, respuestas de agresión en palomas (Papini, 2006), de sometimiento en ratas (Mustaca, Martínez & Papini, 2000). Este procedimiento experimental se puede considerar como un tipo de CSR.

* Enviar correspondencia a: Justel, Nadia
E-mail: nadiajustel@gmail.com

Los ansiolíticos son fármacos con acción depresora del sistema nervioso central, destinados a disminuir o eliminar los síntomas de la ansiedad. La administración de estas drogas en la extinción ha producido resultados dispares. En algunos trabajos se halló que la administración de ansiolíticos producía un retardo de la extinción (e.g. Gray, Davis, Feldon, Nicholas, Rawlins & Owen, 1981). Este retraso fue observado utilizando tanto procedimientos instrumentales, como por ejemplo, la respuesta de presión de palanca (e.g. Thiebot, Childs, Soubrie & Simon, 1983) como consumatorios, utilizando agua como reforzador en animales sedientos (Bialik, Pappas & Puszta, 1982; Soubrie, Thiebot, Simon & Boissier, 1978). Flaherty (1990) realizó este protocolo utilizando solución azucarada al 32% como reforzador durante la fase de adquisición, luego de lo cual los animales eran expuestos a una única sesión de extinción de 20 minutos. Previamente a esto los sujetos recibieron la administración de clordiazepóxido (CDP; 8mg/kg) o salina. El autor encontró que durante los primeros minutos de la Extinción consumatoria (Ec) los animales mostraban un retraso en la extinción, tomando como medida el lameteo de los sujetos.

Otras investigaciones encontraron efectos opuestos, Williams, Gray, Sinden, Auckland y Rawlins (1990), utilizando un procedimiento operante de presión de palanca con un programa de reforzamiento de razón fija, hallaron que el CDP, administrado previamente a las sesiones de extinción, reducía la resistencia a la misma. Los mismos resultados fueron replicados administrando a ratones diversas drogas con efectos ansiolíticos: L-838,417 y TP13 (dos agonistas parciales de benzodiazepinas) y buspirona (Leslie, Shaw, McCabe, Reynolds & Dawson, 2004; Leslie, Shaw, Greg, McCormick, Reynolds & Dawson, 2005; McCabe, Shaw, Attack, Street, Wafford, Dawson et al., 2004).

Mustaca, Freidin y Papini (2002) abordaron el problema evaluando la Ec con soluciones azucaradas como reforzadores en lugar de agua. El conjunto de los datos obtenidos mostraron que diversos tratamientos con efecto ansiolítico, tales como la administración de etanol (Kamenetzky, Mustaca, Pedrón, Cuenya & Papini, 2009), la administración de testosterona (Justel, 2011) y la exposición moderada a diversos estresores durante el período neonatal (Ruetti, Justel, Mustaca, Torrecilla & González Jatuff, 2010) aceleraron la Ec, en concordancia con los experimentos de Williams y colaboradores (1990), Leslie et al. (2004, 2005) y McCabe et al. (2004). Debido a los resultados ambiguos observados en los datos bibliográficos, el objetivo del presente trabajo es estudiar el efecto que una benzodiazepina como el diazepam (DCP; Prut &

Belzung, 2003), produce sobre la extinción de una respuesta consumatoria, utilizando una solución azucarada como reforzador.

2. Materiales y métodos.

2.1. Sujetos

Se utilizaron 15 ratas macho Wistar (*Rattus norvegicus*) de 4 meses de edad al comienzo del experimento, provistas por el bioterio del Instituto de Investigaciones Médicas (IDIM), Universidad de Buenos Aires, CONICET, representativas de 7 camadas de animales. Los sujetos tenían experiencia previa en un procedimiento de Contraste Sucesivo Negativo consumatorio (CSNc). La media de peso ad libitum fue de 430 g (rango: 299 g-507 g). Una semana antes del comienzo del experimento, los animales se colocaron en jaulas individuales, con acceso libre a agua y alimento. Se redujo gradualmente la cantidad de alimento diario, hasta que alcanzaron el 85 % de su peso ad libitum. El cuarto experimental y la habitación donde se alojaron los animales se mantuvieron a temperatura (22°C) y humedad (60-70% HR) constantes. Las ratas tuvieron un ciclo diario de luz-oscuridad de 12 horas (luz de 7 a 19hs).

2.2. Aparatos

El entrenamiento se realizó en 4 cajas de condicionamiento (MED Associates, Georgia, Vermont, USA), que miden 29.2 x 24.1 x 21 centímetros (largo x ancho x alto). El piso está formado por barras de aluminio de 0.4 cm de diámetro separadas entre sí 1.1 cm, medido de centro a centro. La pared lateral izquierda tiene a 10 cm del piso una cavidad, de 5 cm de altura, 5 cm de ancho y 3.5 cm de profundidad, dentro de la cual se inserta el bebedero. Las ratas tuvieron que ingresar su cabeza dentro de esta cavidad para acceder al bebedero con la solución azucarada. Cuando estuvieron en contacto con el bebedero, los animales interrumpieron un haz de luz fotoeléctrico, y mediante una computadora se registró el tiempo (en unidades de 0.01 s) que el animal permaneció en contacto con el bebedero durante la sesión experimental, por lo que la variable dependiente fue el *tiempo de contacto con el bebedero (s)*.

2.3. Procedimiento

El entrenamiento constó de dos fases: la fase de adquisición de 10 sesiones y la de extinción de 3 sesiones. Se realizaron sesiones diarias, cada una de 5 minutos de duración. En la fase de adquisición, todos los sujetos tuvieron acceso a un bebedero que contenía la solución azucarada al 32%. En la fase de extinción, a todos los animales se les presentó el bebedero vacío. Los sujetos se asignaron a los grupos experimentales

diacepam (DCP, $n=8$) y control (sustancia vehículo, VEH, $n=7$) de acuerdo a la solución que consumieron durante el experimento anterior de modo que hubiera la mitad (32 ó 4%) a cada grupo, así como contrabalanceados por el tiempo de contacto con el bebedero que presentaron en los 3 últimos ensayos de la fase de adquisición, quedando conformados entonces el grupo que recibió la administración del ansiolítico y el grupo que recibió la administración de la sustancia vehículo.

El DCP se inyectó de modo intraperitoneal media hora antes de cada ensayo de Ec, en una dosis de 4 mg/kg, en un volumen de 0.8ml, tanto la dosis como el tiempo de administración fueron utilizados por Mustaca, Bentosela y Papini (2000) en un procedimiento de CSNc con ratones. La solución azucarada (peso/volumen) se preparó mezclando 320 g de azúcar comercial en 1 L de agua de la canilla.

2.4. Análisis estadístico:

Para el análisis de los resultados se utilizó la prueba estadística de análisis de varianza (ANOVA) de medidas repetidas. La adquisición y la extinción se evaluaron mediante ANOVAS separados. El valor de significación de alfa se estableció en $p < .05$.

3. Resultados

La Figura 1 muestra el desempeño de los 2 grupos a lo largo de las sesiones de adquisición y de extinción.

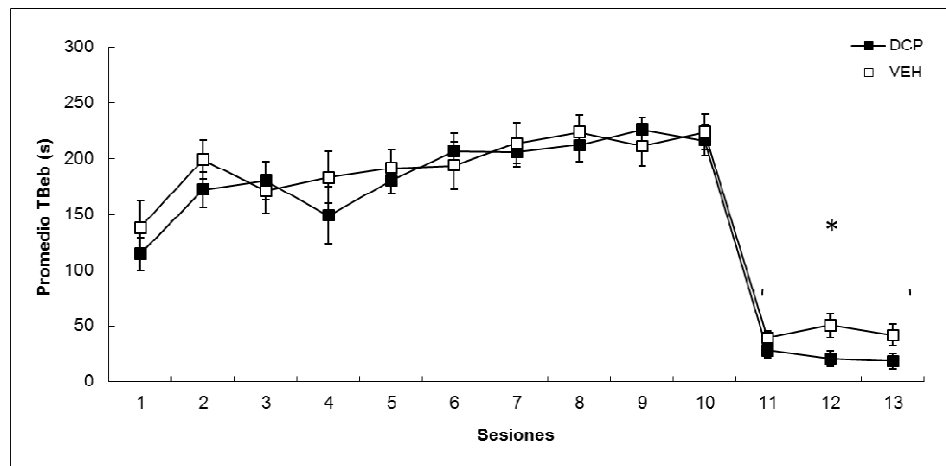


Figura 1. Promedio del Tiempo de contacto con el Bebedero (s) de la fase de adquisición y extinción de ambos grupos. Antes de cada sesión de extinción el grupo diacepam (DCP) recibió 4 mg/kg de diacepam, mientras que el grupo vehículo (VEH) recibió una dosis equivalente de una sustancia vehículo. No hay administración durante la adquisición, las dos líneas se incluyen para graficar la homogeneidad de los grupos durante dicha fase. * $p < .05$.

4. Discusiones

Los resultados obtenidos en el presente trabajo señalan que la administración de una benzodiazepina

Se observa un incremento de la respuesta durante la adquisición y una disminución brusca durante la extinción en ambos grupos, pero con una mayor caída de la respuesta en los animales del grupo experimental. Un análisis que evalúo la experiencia previa (32 vs 4%) no mostró diferencias significativas, por lo cual esta variable no se incluye en los análisis de adquisición o extinción. En la fase de adquisición, un análisis de Droga (DCP vs. VEH) x Sesiones (1-10) muestra un efecto significativo de Sesiones $F(9, 117) = 14.07$, $p < .001$. Ninguno de los demás análisis realizados arroja diferencias significativas ($p > .05$). Esto señala que no había diferencias previas entre los grupos antes de la administración de la droga.

En la fase de extinción, un análisis de Droga (DCP vs. VEH) x Sesiones (11-13) muestra un efecto significativo de Droga $F(1, 13) = 6.31$, $p < .05$. El grupo que recibió la administración de DCP tuvo un aceleramiento significativo de la Ec comparado con los animales que recibieron vehículo. Ninguno de los demás análisis realizados arrojó diferencias significativas ($p > .05$). En resumen, los sujetos que recibieron DCP muestran un menor tiempo de contacto con el bebedero durante toda la fase de extinción, comparado con el grupo que recibió la sustancia vehículo, evidenciándose así una extinción más rápida de su respuesta condicionada.

como el DCP, inyectada 30 minutos antes de las sesiones de Ec, acelera la supresión de la respuesta condicionada ante el bebedero vacío. Estos resultados concuerdan con los estudios realizados en nuestro

laboratorio, los cuales involucran la omisión de soluciones azucaradas en animales privados de alimento (Justel, 2011; Kamenetzky et al., 2009; Ruetti et al., 2010). También concuerdan con los trabajos de extinción operante donde se utiliza la respuesta de presión de palanca (Leslie et al., 2004, 2005; McCabe et al., 2004; Shaw et al., 2009; Williams et al., 1990).

La dosis de DCP utilizada en este experimento mostró ser efectiva en reducir las respuestas de ansiedad de los animales (e.g. Gonzalez-Pardo, Conejo & Arias, 2006; Wesolowska & Nikiforuk, 2007) y en atenuar el efecto de frustración ante la devaluación de un reforzador apetitivo (Mustaca et al., 2000). También se halló que la administración de DCP hasta 5 mg/kg no altera la actividad locomotriz de los animales evaluados en la prueba de campo abierto (Leveleki et al., 2006; Prut & Belzung, 2003). De manera que se puede concluir indirectamente que el efecto de la administración de DCP sobre la Ec no se debe a efectos periféricos o sedativos de esta droga sobre el comportamiento de los animales.

Sin embargo, los resultados de este experimento son diferentes a los hallados en la Ec cuando usan agua como reforzador en ratas sedientas (Bialik et al., 1982; Gray et al., 1981; Soubrie 1978). Además Flaherty (1990) en un procedimiento similar al nuestro, también halló un retraso en la Ec en vez de una aceleración. Estas diferencias pueden deberse a variaciones en los protocolos, por ejemplo, utilizar agua en animales sedientos en lugar de una solución azucarada en animales privados de alimento, medir lameteos como variable dependiente en vez de acercamiento al bebedero, entre otras.

Una disociación similar en el efecto de las benzodiacepinas sobre la extinción se observa en el condicionamiento de miedo. Los animales que reciben inyecciones de DCP, presentan una reducción del miedo clásicamente condicionado, disminuyendo rápidamente las respuestas de congelamiento ("freezing"), en comparación con los que recibieron vehículo (Korte, Koolhas, Schuurman, Traber & Bohus, 1990; Resstel, Joca, Moreira, Correa & Guimaraes, 2006). En cambio, utilizando un condicionamiento instrumental de miedo, como la evitación inhibitoria, la administración de DCP produce un retraso en la extinción, dado que los animales siguen saltando hacia un compartimiento previamente asociado a descargas eléctricas (Izquierdo & Cardoso Ferreira, 1989; Tomaz, Dickinson-Anson & McGaugh, 1991). Una disociación similar podría existir entre la Ec (donde prevalecerían asociaciones pavlovianas) y algunos casos de extinción instrumental. Sin embargo esta explicación no logra dar cuenta de la

extinción más rápida en la respuesta de presión de palanca y de los resultados de la Ec cuando usan agua en ratas sedientas.

Otra explicación posible es que durante la extinción los ansiolíticos faciliten la inhibición de un comportamiento que ya no es apropiado, por ejemplo, ir hacia un bebedero que no contiene el reforzador, y que esta inhibición dependa del sistema GABAérgico (Myers & Davis, 2002). De acuerdo a esta hipótesis, en la Ec los animales que recibieron la administración de DCP inhiben más rápido la conducta de acercarse al bebedero vacío. Nuevamente esta explicación no concuerda con los resultados de Bialik et al. (1982), Soubrie et al. (1978) y Flaherty (1990). Por lo que ninguna de las posibles explicaciones abarca al fenómeno de la extinción por completo, y por ende el tema continúa siendo controversial.

Estas discrepancias sobre los efectos ansiolíticos con eventos aversivos merecen ser evaluados en el futuro con más experimentos. Teniendo en cuenta que estas drogas se aplican con frecuencia para trastornos psicológicos que implican el enfrentamiento de situaciones adversas, podría ocurrir que su uso a veces retrasase en vez de acelerar los procesos de extinción, necesarios para una mejor adaptación..

Agradecimientos.

Las autoras agradecen especialmente el apoyo de CONICET y a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, a través de los proyectos PICT 2004 número 25335 y PICT 2005 número 38020, y a UBACyT, Argentina.

Referencias

- Bouton, M. E. (2004). A general role for early onset cues and intra-event learning: comment on McDonald and Siegel (2004). *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, 12, 18-19.
- Bialik, R. J.; Pappas, B. A. & Puszta, W. (1982). Chlordiazepoxide-induced released responding in extinction and punishment-conflict procedures is not altered by neonatal forebrain norepinephrine depletion. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 16, 279-283.
- Daly, H. (1969). Learning of a hurdle-jump response to escape cues paired with reduced reward or frustrative nonreward. *Journal of Experimental Psychology*, 79, 146-157.
- Gonzalez-Pardo, H.; Conejo, N. & Arias, J. (2006). Oxidative metabolism of limbic structures after acute administration of diazepam, alprazolam and zolpidem. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 30, 1020-1026.
- Gray, J. A.; Davis, N.; Feldon, J.; Rawlins, J. & Owens, S.

- (1981). Animal models and anxiety. *Progress in Neuropsychopharmacology*, 92, 491-504.
- Gray, J. A. & McNaughton, N. (2000). *The Neuropsychology of anxiety: an enquiry into the functions of the septo-hippocampal system* (2nd ed.). Oxford: Oxford University Press.
- Izquierdo, I. & Cardoso Ferreira, B. (1989). Diazepam prevents post-training drug effects related to state dependency, but not post-training memory facilitation by epinephrine. *Behavioral and Neural Biology*, 51, 73-79.
- Justel, N. (2011) Hormonas Sexuales y Frustración. Disertación doctoral no publicada. Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.
- Kamenetzky, G.; Mustaca, A.; Pedrón, V.; Cuenya, L. & Papini, M. (2009). Ethanol facilitates consummatory extinction. *Behavioural Processes*, 82, 352-354.
- Korte, S.; Koolhas, J.; Schuurman, T.; Traber, J. & Bohus, B. (1990). Anxiolytics and stress-induced behavioural and cardiac responses: a study of diazepam and ipsapirone (TVX Q 7821). *European Journal of Pharmacology*, 179, 393-401.
- Leslie, J.; Shaw, D.; Greg, G.; McCormick, L.; Reynolds, D. & Dawson, G. (2005). Effects of reinforcement schedule on facilitation of operant extinction by chlordiazepoxide. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 84, 327-338.
- Leslie, J.; Shaw, D.; McCabe, C.; Reynolds, D. & Dawson, G. (2004). Effects of drugs that potentiate GABA on extinction of positively-reinforced operant behavior. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 28, 229-238.
- Leveleki, C.; Sziray, N.; Levay, G.; Barsvári, B.; Soproni, K.; Mikics, E. & Haller, J. (2006). Pharmacological evaluation of the stress-induced social avoidance model of anxiety. *Brain Research Bulletin*, 69, 153-160.
- McCabe, C.; Shaw, D.; Atack, J.; Street, L.; Wafford, K.; Dawson, G.; Reynolds, D. & Leslie, J. (2004). Subtype-selective GABAergic drugs facilitate extinction of mouse operant behavior. *Neuropharmacology*, 46, 171-178.
- McNaughton, N. & Corr, P. J. (2004). A two-dimensional neuropsychology of defense: Fear/anxiety and defensive distance. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 28, 285-305.
- Mustaca, A.; Bentosela, M. & Papini, M. (2000). Consummatory Successive Negative Contrast in mice. *Learning and Motivation*, 31, 272-282.
- Mustaca, A.; Freidin, E. & Papini, M. (2002). Extinction of consummatory behavior in rats. *International Journal of Comparative Psychology*, 15, 1-10.
- Mustaca, A.; Martinez, C. & Papini, M. (2000). Suppressing decrease of responses agonistic in rats in consummatory contrast. *International Journal of Comparative Psychology*, 13, 91-100.
- Myers, K. & Davis, M. (2002). Behavioural and neural analysis of extinction. *Neuron*, 36, 567-584.
- Norris, J. N.; Pérez-Acosta, A. M.; Ortega, L. A. & Papini, M. R. (2009). Naloxone facilitates appetitive extinction and eliminates escape from frustration. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 94, 81-87.
- Papini, M. R. (2006). Role of surprising nonreward in associative learning. *Japanese Journal of Animal Psychology*, 56, 35-54.
- Papini, M. R. & Dudley, R. T. (1997). Consequences of surprising reward omissions. *Review of General Psychology*, 3, 275-285.
- Prut, L. & Belzung, C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European Journal of Pharmacology*, 463, 3-33.
- Resstel, L.; Joca, S.; Moreira, F.; Correa, F. & Guimaraes, F. (2006). Effects of cannabidiol and diazepam on behavioral and cardiovascular responses induced by contextual conditioned fear in rats. *Behavioural Brain Research*, 172, 294-298.
- Ruetti, E.; Justel, N.; Mustaca, A.; Torrecilla, M. & González Jatuff, A. (2010). "Estrés neonatal y frustración". *Revista Latinoamericana de Psicología*, 42, 279-288.
- Shaw, D.; Norwood, K.; Sharp, K.; Quigley, L.; McGovern, S. & Leslie, J. (2009). Facilitation of extinction of operant behaviour in mice by D.cycloserine. *Psychopharmacology*, 202, 397-402.
- Soubrie, P.; Thiebot, P.; Simon, P. & Boissier, J. R. (1978). Benzodiazepines and behavioural effects of reward (water) omission in the rats. *Psychopharmacology*, 59, 95-100.
- Thiebot, M.; Childs, M.; Soubrié, P. & Simon, P. (1983). Diazepam-induced release of behavior in an extinction procedure: its reversal by Ro 15-1788. *European Journal of Pharmacology*, 88, 111-116.
- Tomaz, C.; Dickinson-Anson, H.; McGaugh, J. L.; Souza-Silva, M. A.; Viana, M. B. & Graeff, F. G. (1993). Localization in the amygdala of the amnesic action of diazepam on emotional memory. *Behavioral Brain Research*, 58, 99-105.
- Wesolowska, A. & Nikiforuk, A. (2007). Effects of the brain-penetrant and selective 5-HT6 receptor antagonist SB-399885 in animal models of anxiety and depression. *Neuropharmacology*, 52, 1274-1283.
- Williams, J.; Gray, J.; Sinden, J.; Buckland, C. & Rawlins, J. (1990). Effects of GABAergic drugs, fornixotomy, hippocampectomy, and septal lesions on the extinction of a discrete-trial fixed ratio 5 lever-press response. *Behavioural Brain Research*, 41, 129-150.